

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-73568

(43) 公開日 平成10年(1998) 3月17日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 27/447			G 0 1 N 27/26	3 3 1 K
// G 0 1 N 21/47			21/47	Z

審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平8-230655

(22) 出願日 平成 8 年(1996) 8 月30日

(71) 出願人 000001993

株式会社島津製作所

京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地

(72) 発明者 荒井 昭博

京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 株式会

社島津製作所三条工場内

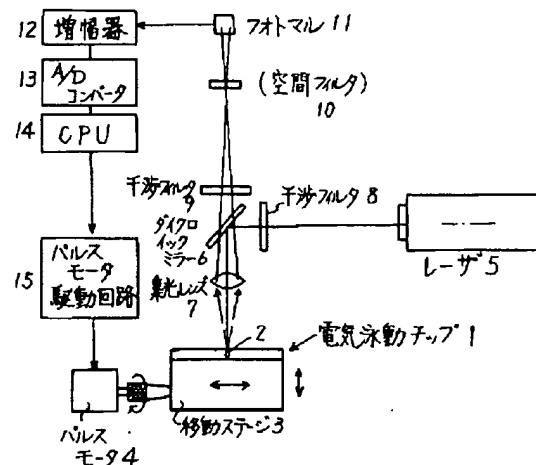
(74) 代理人 弁理士 西岡 義明

(54) 【発明の名称】 キャピラリー電気泳動装置

(57) 【要約】

【課題】 光軸合せを自動的に行うキャピラリー電気泳動装置を提供することを目的とする。

【解決手段】 本発明では、移動ステージ3を移動させて、電気泳動チップ1上の泳動溝2をビームが横切るようにする。このとき、レーザービーム径は約10μmであり、泳動溝2は幅30μmで断面形状が逆台形をしているので、レーザービームが泳動溝2の側面に当たるときが散乱光のピークとなり、中央部に当たるときが散乱光は最も小さい。散乱光は干渉フィルタ9を透過してフォトマル11に達する。移動ステージ3を移動させて、第1のピークが検出されるとき位置（移動ステージ3の位置）をCPU14で記憶し、さらに移動ステージ3を移動させ、第2のピークが検出されるとき位置（移動ステージ3の位置）をCPU14で記憶させる。そして、これらの2点の中間にレーザービームが来るように、パルスモータ駆動回路15にCPU14より駆動信号が送られ、移動ステージ3を戻す。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 一対の板状部材を備え、少なくとも一方の板状部材の表面に液が流れる溝を、他方の板状部材に該溝に略対応する位置に貫通孔を各々設け、これら板状部材が溝を内側にして張り合わされて成るキャピラリー電気泳動チップと、該電気泳動チップの液溝の一部に光を照射する光源と、該光源の対向する位置に配設された検出器とからなるキャピラリー電気泳動装置において、前記電気泳動チップを光源からの光が横切られる方向に移動させる移動部と、該移動部による電気泳動チップの移動により生ずる複数の散乱光のピークを前記検出器で検出して、ピーク値の中間位置を算出する算出部と、前記ピーク値の中間位置に基づき前記移動部の移動を制御する制御部とを備えたことを特徴とするキャピラリー電気泳動装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、極微量のタンパクや核酸などを、高速かつ高分解能に分析する場合に利用される電気泳動装置に関し、さらに詳しくは、板状部材に形成した溝をキャピラリーとして用いるキャピラリー電気泳動装置に関する。

【0002】

【従来の技術】従来より極微量のタンパクや核酸などを分析する場合には、電気泳動装置が用いられており、その代表的な装置としてキャピラリー電気泳動装置がある。この泳動装置は、内径50 μ m程度もしくはそれ以下のガラスキャピラリー内に泳動バッファを充填し、一方の端に試料を導入した後、キャピラリー両端に高電圧を印加して、分析対象物をキャピラリー内で展開させるもので、ガラスキャピラリー内が容積に対して表面積が大きい、すなわち冷却効率が高いことより、高電圧の印加が可能となり、DNAなどの極微量試料を高速かつ高分解能にて分析することができる。

【0003】また、前記したガラスキャピラリーを用いたものは、使用するキャピラリー外径が100～数10 μ m程度と細く破損し易いため、ユーザが行うべきキャピラリー交換時の取扱いが容易でない課題を有する。そのため、D.J. Harrison et al. / Anal. Chim. Acta 283 (1993) 361-366に記されているように、2枚の基板を接合して形成された、キャピラリー電気泳動チップが提案されている。この電気泳動チップの例を図3に示す。これは一対の透明基板（ガラス板）51、52からなり、一方の透明基板52の表面に泳動用のキャピラリー溝54、55を形成し、他方の透明基板51のその溝54、55の端に対応する位置にリザーバ53を設けたものである。

【0004】この装置の使用は、両透明基板51、52を図3(c)に示すように重ね、いずれかのリザーバ53から泳動液を溝54、55の中に注入する。そして短

い方の溝54の両端のリザーバ53に電極を差し込んで所定時間だけ高電圧を印加する。これにより、試料は溝54の中に分散される。次に長い方の溝55の両端のリザーバに電極を差し込み、泳動電圧を印加する。これにより、両溝54、55の交差部分56に存在する試料が溝55内を電気泳動する。そして、溝55の適当な位置に光入射口を設け、そこにレーザー光を照射して蛍光検出を行う。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、従来のキャピラリー電気泳動チップでは、チップ平面の幅数10 μ mの流路にレーザービーム等の光軸を合わせる場合には、先ず顕微鏡とチップを固定し、位置の微調整が可能な光学ステージを使用して、目視にたよっているのが、現状である。これでは装置は大掛かりな上、操作が煩雑となる。

【0006】そこで、本発明は上記課題を解決するため、光軸合せを自動化したキャピラリー電気泳動装置を提供することを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明は、上記課題を解決するため、一対の板状部材を備え、少なくとも一方の板状部材の表面に液が流れる溝を、他方の板状部材に該溝に略対応する位置に貫通孔を各々設け、これら板状部材が溝を内側にして張り合わされて成るキャピラリー電気泳動チップと、該電気泳動チップの液溝の一部に光を照射する光源と、該光源の対向する位置に配設された検出器とからなるキャピラリー電気泳動装置において、前記電気泳動チップを光源からの光が横切られる方向に移動させる移動部と、該移動部による電気泳動チップの移動により生ずる複数の散乱光のピークを前記検出器で検出してピーク値の中間位置を算出する算出部と、前記ピーク値の中間位置に基づき前記移動部の移動を制御する制御部とを備えたことを特徴とする。

【0008】ここで、板状部材とは例えば各種ガラス、石英もしくはSi基板が用いられ、それらの厚みは例えば0.2～1mm程度が好ましい。この板状部材にフォトリソグラフィ技術により溝が形成される。フォトリソグラフィ技術とは、フォトマスクのパターンを転写して複製を作製する技術をいい、一般にはフォトレジストまたはレジストと呼ばれる感光性材料を基板表面に塗布し、光でパターンを転写する。そして、転写した平面的なパターンからエッチングなどによりある程度の立体的な形に加工するものである。

【0009】使用するフォトレジスト（またはレジスト）は、例えば東京応化社製OPFR5000、シプレイ・ファーマー社製マイクロボジットS1400、OMR83-100cpを用いることができるが、これらに限定されず、後のエッチング工程に耐え得るものであれば特に限定されない。また、その厚さは後のエッチ

ング工程に耐える厚みが必要であり、1～2μmの厚みが一般的である。

【0010】マスクパターンの転写は、一般の集積回路の場合のようにレジストを塗布した基板にフォトマスクを密着する密着露光やステッパ（縮小投影露光装置）などを用いる投影露光が行われる。また、ホログラフィック露光であっても良い。なお、露光の際に使用する光源としては、例えば、超高圧水銀ランプのg線（436nm）を用いることができ、露光条件はレジスト材とレジストの厚みに依存する。エッチングの方法は、各種ガラスや石英をエッチングする場合は、ウエットエッチングが挙げられる。そのエッチャントは、各種ガラスや石英がエッチングされる溶液であれば特に限定されるものではないが、例えば、弗酸系の溶液が使用されるのが一般的である。また、Si基板にエッチングする方法としては、ウエットエッチング（異方性エッチング）が挙げられる。異方性エッチングに用いるエッチャントは、KOH水溶液、TMAH（テトラメチルアンモニウムヒドライド）、ヒドラジンなどこの分野で使用されているエッチャントであれば、特に限定されるものではない。

【0011】一方の板状部材には、例えば、テーパ状の貫通孔を形成する。ここで、ガラスや石英基板に貫通孔を形成する方法は、特に限定されるものではないが、超音波加工を用いるのが一般的である。貫通孔の大きさは、特に限定されるものではないが、例えば開口直径は0.1～数mm程度が望ましい。

【0012】板状部材の張り合わせは、溝を内側にして重ね合わせて行う。2枚の板状部材の張り合わせ（接合）手段は特に限定されるものではないが、本発明の場合は微量分析装置ゆえ、接着剤は使用せず板状部材同士を直接接合するのが望ましい。ガラス同士の接合には、真空中もしくは窒素置換雰囲気中で600～900℃程度に加熱することで、2枚のガラスを融着する手段が望ましい。また石英の接合には、例えば、少なくとも一方の基板接合面にガラスをスパッタ成膜した後に、上記と同様に加熱する手段が望ましい。さらにガラスとシリコンを接合する場合は、例えば、400℃程度に加熱してガラス側に1kV程度の負電圧を印加して接合する陽極接合法を用いても良い。

【0013】光源としては、例えばレーザー、重水素ランプ、タングステンランプなどを用いることができるが、レーザーが好ましい。レーザーとしては、He-Cdレーザー、アルゴンイオンレーザー等を用いることができるが、これらに限定されない。検出器は、例えば光電管、光電子増倍管、シリコンフォトセル、フォトダイオードなどを用いることができる。検出器の位置は、光源と対向する位置ならば特に限定されないが、散乱光を検出するためにも光源と垂直位置が好ましい。

【0014】移動部としては、例えば電気泳動チップを載置し、X-Y方向に駆動できる平板状ステージを挙げ

ることができ、X-Y方向駆動は、パルスモータ、ラック・ピニオン機構等によって行うことができる。なお、駆動方向は、電気泳動チップを光源からの光を横切る方向に移動させることができれば特に限定されず、また、三次元方向でもよい。移動部の移動は、後述する制御部で制御される。

【0015】算出部は、例えば、前記検出器で検出した電気泳動チップの移動により生ずる散乱光のピーク値の位置を記憶し、その中間位置を算出する演算回路を備えたものが該当する。制御部は、算出部により算出された散乱光のピーク値の中間位置に電気泳動チップが来るように移動部を制御するもので、算出部をも兼ねてCPUにより構成することもできる。

【0016】なお、試料溶液の注入は、電気泳動チップの貫通孔よりマイクロシリンジなどの公知の注入器を用いて行う。試料溶液の注入後、貫通孔に針状電極（例えば白金ワイヤー電極）を挿入し、電圧を印加して泳動を行う。

【0017】

【発明の実施の形態】本発明のキャピラリー電気泳動装置の一実施例を図1に基づいて説明する。図1中1は電気泳動チップを示し、チップ中に泳動溝2が形成されている。電気泳動チップ全体の概略は前述した図3と同様のもので、断面形状は図2（イ）に示す。なお、図2（イ）中、1aはカバープレート、1bはベースプレートであり、これら一対の板状部材のサイズは、例えば縦10mm、横20mm、厚さ0.5mmであり、泳動溝2は幅30μm、深さ10μmである。泳動溝2の形状は、逆台形の形状をしている。3は、電気泳動チップをX-Y-Z方向に移動させる移動ステージで、X-Y方向へはパルスモータ4により移動され、Z方向へは図示しない駆動機構により移動される。

【0018】5はレーザーで、例えばアルゴンイオンレーザー（488nm、8mW）を用いる。レーザー5のビームは、ダイクロイックミラー（510nm以上を透過）6で反射され、集光レンズ（40倍、開口径0.55）7を通して、電気泳動チップ1の泳動溝2に照射される。なお、8は450～490nmの光を透過させる干渉フィルタである。11はフォトマルであり、泳動溝2へのレーザーの照射により生じた蛍光等を前述した集光レンズ7、ダイクロイックミラー6を透過させた後、受光する。なお、9は530nmより長波長側の光を透過させる干渉フィルタ、10はφ1.0のピンホールを有する空間フィルタである。フォトマル11の信号が増幅器12で増幅された後、A/Dコンバータ13で変換され、CPU14に入る。CPU14は、フォトマル11で検出した電気泳動チップ1の移動により生ずる散乱光のピーク値の位置（移動ステージの位置）を記憶し、中間位置を算出し、算出された散乱光のピーク値の中間位置に電気泳動チップが来るように移動ステージ3の駆

5

動信号を発する。駆動信号は、パルスモータ駆動回路15に送られ、パルスモータ4を駆動させる。

【0019】以上の構成で、本装置の動作は次の様に行う。まず、移動ステージ3をレーザービームに対して直光方向(X方向)に移動させ、電気泳動チップ1上の泳動溝2をビームが横切るようにする。レーザービーム径は約 $10\mu\text{m}$ であり、泳動溝2は幅 $30\mu\text{m}$ で、断面形状が図2(イ)に示す形をしているので、レーザービームが当たる位置によって散乱光が生じる。すなわち、泳動溝2にレーザービームが当たるとき(図2(イ)のb)は、散乱光は干渉フィルタ9を透過してフォトマル11に達する。一方、レーザービームが泳動溝2の中央部に当たるとき(図2(イ)のa)は散乱光は最も小さい。さらに、レーザービームが泳動溝2のもう一方の側面に当たるとき(図2(イ)のc)は、図2(イ)のbと同様に壁面で反射してできる散乱光がフォトマル11に入り、バックグランドを上昇させる。

【0020】図2(イ)のa～cの現象をフォトマル11の信号として見た場合、図2(ロ)に示すような2つのピークが得られる。したがって、ピークの中間位置に電気泳動チップ1とレーザービームの位置関係がくるようにすればよい。

【0021】そのため、移動ステージ3を移動させて、第1のピークが検出されるとき(移動ステージ3の位置)をCPU14で記憶し、さらに移動ステージ3を移動させ、第2のピークが検出されるとき(移動ステージ3の位置)をCPU14で記憶させる。これ

6

らの2点の中間にレーザービームが来るように、パルスモータ駆動回路15にCPU14より駆動信号が送られ、移動ステージ3が戻される。

【0022】レーザービームがピークの中間位置(泳動溝2の中央)に来れば、図示しないZ方向への駆動機構により、移動ステージ3をZ方向へ移動させ、検出信号が最大となる位置を調節する。以上の動作で、レーザービームの光軸調整が終了したので、電気泳動チップ1上の泳動溝2に試料を注入して電圧を印加し、電気泳動を行う。

【0023】

【発明の効果】本発明によれば、目視にたよらず自動的に光源の光軸合わせが可能となるので、従来の煩雑さから開放される。また、電気泳動チップの交換時期も簡単にわかるので、交換することによる検出信号のバラツキも軽減される。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のキャピラリー電気泳動装置の一実施例図

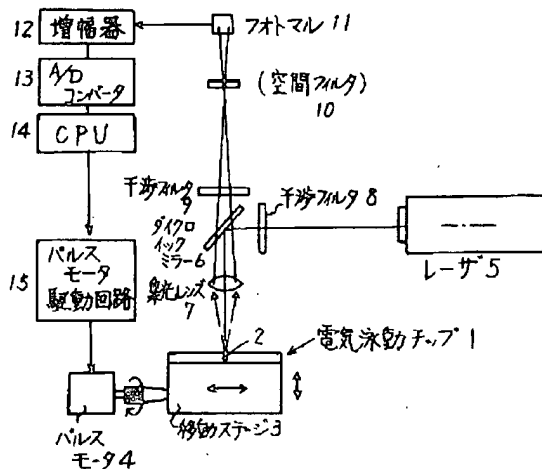
【図2】(イ)電気泳動チップの断面図 (ロ)散乱光のピーク位置の説明図

【図3】キャピラリー電気泳動チップの概略図

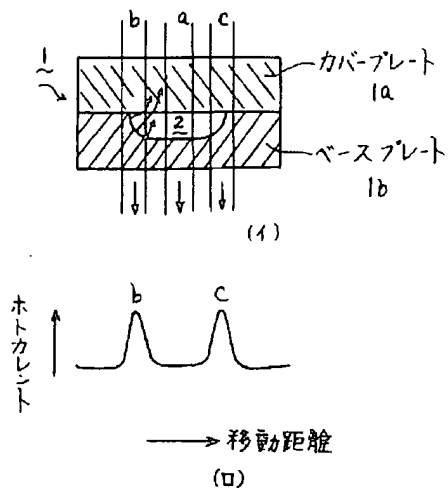
【符号の説明】

1: 電気泳動チップ	2: 泳動溝
3: 移動ステージ	4: パルスモータ
5: レーザー	11: フォトマル
14: CPU	

【図1】



【図2】



【図3】

